PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number:

03-007593

(43) Date of publication of application: 14.01.1991

(51)Int.Cl.

C12P 19/60 A23L 1/30 A61K 7/00 A61K 31/70 C07H 17/07

(21)Application number: 01-141902

(71)Applicant: HAYASHIBARA BIOCHEM LAB INC

(22)Date of filing:

03.06.1989

(72)Inventor: TSUCHIYA HIROMI

MIYAKE TOSHIO

(54) ALPHA-GLYCOSYL HESPERIDIN, PRODUCTION AND USE THEREOF

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain α -glycosyl hesperidin having excellent water solubility and excellent physiological activity free from toxicity industrially and advantageously by linking \geq equimolar amount of D-glucose residue to hesperidin by α bond.

CONSTITUTION: Hesperidin is dissolved in a solution having pH \geq 7.0 so as to make 0.01–10.0w/v% and blended with 0.5–50 times as much α -glucosyl saccharide compound such as dextrin as hesperidin to give a blended solution. Then the blended solution is mixed with a glycosyltransferase derived from Bacillus stearothermophilus and reacted at pH7.5–10.0 at 50–80° C for about 24 hours to give a reaction solution. Then the reaction solution is heated, filtered to remove insoluble substances, the resulting substance is brought into contact with a porous synthetic adsorbent comprising nonionic styrene-divinylbenzene polymer and purified to collect α -glycosyl hesperidin. Then the hesperidin is contained as an active ingredient to give an drug for alleviating sensitivity diseases or cosmetic.

19 日本国特許庁(JP)

① 特許出願公開

⑩ 公 開 特 許 公 報 (A) 平3-7593

③Int.Cl.⁵	識別記号	庁内整理番号	④公開	平成3年(1991)1月14日
C 12 P 19/60 A 23 L 1/30 A 61 K 7/00	Z F X	8214-4B 8114-4B 8413-4C 8413-4C		
C 07 H 17/07	ABF	7431-4C 7822-4C 審査請求	未請求	青求項の数 6 (全14頁)

ᢒ発明の名称

αーグリコシル ヘスペリジンとその製造方法並びに用途

②特 願 平1-141902

29出 顯 平1(1989)6月3日

⑫発 明 者

土 屋

裕美

岡山県岡山市小山90番地の2

位発 明 者 の出 願 人 三宅

俊 雄

岡山県岡山市奥田1丁目7番10-403号

株式会社林原生物化学

岡山県岡山市下石井1丁目2番3号

研究所

明 細 響

1. 発明の名称

αーグリコシル ヘスペリジンとその製造方法 並びに用途

2. 特許請求の範囲

- (1) ヘスペリジンに D ーグルコース残基が等モル以上α結合しているαーグリコシル ヘスペリジン。
- (2) ヘスペリジンとαーグルコシル糖化合物とを含有する溶液に搪転移酵素を作用させてαーグリコシル ヘスペリジンを生成せしめ、これを採取することを特徴とするαーグリコシル ヘスペリジンの製造方法。
- (3) ヘスペリジンと α ー グルコシル糖化合物とを含有する溶液に糖転移酵素を作用させて α ー グリコシル へスペリジンを生成せしめ、次いで、この溶液を多孔性合成吸着剤に接触させて精製し、 α ー グリコシル ヘスペリジンを採取することを特徴とする α ー グリコシル ヘスペリジンの製造方法。

- (4) ヘスペリジンに D ーグルコース残基が等モル 以上α結合している α ーグリコシル へスペリ ジンを含有せしめた飲食物。
- (5) ヘスペリジンに D ー グルコース 残 蓋が 等 モル 以上 α 結合している α ー グリコシル ・ ヘスペリ ジンを有効成分として含有せしめた抗感受性疾 裏剤。
- (6) ヘスペリジンに D ーグルコース 残 護 が 等 モル 以上 α 結合している α ーグリコシル ・ヘスペリ ジンを有効成分として含有せしめた化粧品。

3. 発明の詳細な説明

[産業上の利用分野]

本発明は、新規 αーグリコシル ヘスペリジンとその製造方法並びに用途に関し、更に詳細には、ヘスペリジンにローグルコース 残基 が等モル以上 な結合している αーグリコシル ヘスペリジンと αーグルコシル 協化と新規 αーグリコシル ヘスペリジンを生成せしめ、これを採取することを特徴とする αーグリコシル

ヘスペリジンの製造方法、並びに、この方法で得られる α ーグリコシル へスペリジンを含有せしめることを特徴とする飲料、加工食品などの飲食物、感受性疾患の予防剤、治療剤すなわち抗感受性疾患剤、美肌剤、色白剤などの化粧品などに関する。

[従来の技術]

ヘスペリジンは、次に示す化学構造を有し、毛 細血管の強化、出血予防、血圧調整などの生理作 用を持つビタミンPとして、また、黄色色素とし て古くから知られ、食品、医薬品、化粧品などに 利用されている。

ヘスペリジンの化学構造

しかしながら、ヘスペリジンは水に難溶で、室温では50Lの水にわずか1g程度(約0.002W/V%) しか溶けず、使用上困難を極めている。

これを改善する方法としては、ヘスペリジンに ジメチル破酸を作用させ、ヘスペリジンのメチル 誘導体にして水溶性を増大する方法が知られてい

しかしながら、この方法は、有機化学的手法により行われ、反応に有塞なジメチル硫酸が使用され、得られる誘導体の精製に相当の困難が伴うことにより、その無塞性、安全性の確保、経済性などの点で満足すべきものではない。また、得られるメチル誘導体が苦味を有している欠点もある。 [発明が解決しようとする課題]

従来のヘスペリジンまたはその誘導体の欠点を 解消し、水溶性に優れ、実質的に無味無臭で、毒 性の懸念もなく、加えて、生体内で生理活性を充 分発揮しうるヘスペリジン誘導体の実現が強く望 まれている。 ピタミンPは、生体内で、ピタミンCの生理活性、例えば、生体結合組織の主成分であるコラーゲンの合成に必要なプロリンやリジンのヒドローシル化反応に関与し、また、例えば、チトクロームCのFe++を選元してFe⁺⁺にするなどの酸化還元反応に関与し、更には、白血球増加による免疫増強作用に関与するなどを増強することが知られており、生体の健康維持、増進に重要な役割をなしている。

[課題を解決するための手段]

本発明は、上記欠点を解消するためになされた ものであって、とりわけ、生化学的手法を利用し て、新規ヘスペリジン誘導体を目指して鋭意研究 した。

その結果、ヘスペリジンとαーグルコシル糖化合物とを含有する溶液に搪転移酵素を作用させることにより、水溶性に優れ、実質的に無味無臭で、毒性の懸念もなく、生体内で容易に加水分解され、ヘスペリジン本来の生理活性を発揮しうる新規αーグリコシル ヘスペリジンの生成しうることを見い出し、その製造方法並びに飲食物、感受性疾患の予防剤、治療剤、化粧品などへの用途を確立して本発明を完成した。

また、この糖転移反応により生成したαーグリコシル ヘスペリジンを精製するに際しては、その反応溶液と多孔性合成吸着剤とを接触させ、その吸着性の違いを利用することにより、容易に精製できることも見い出し本発明を完成した。

従って、本発明のαーグリコシル ヘスペリジ

ンの製造方法は、従来技術の欠点を一挙に解消し、 その工業化の実現を極めて容易にするものである。 以下、本発明を詳細に説明する。

本発明に用いるヘスペリジンは、高度に精製されたヘスペリジンに限る必要はなく、ヘスペリジンと、例えば、シトロニン、ナリンジン、ルチンなどのフラボノイド配糖体との混合物、更には、ヘスペリジンを含有している各種植物由来の抽出物、またはその部分精製物などが適宜使用できる。

植物組織としては、例えば、柑橘類の果実、果 皮、未熟果などが有利に利用できる。

従って、αーグリコシル ヘスペリジンの生成 を容易にするためには、糖転移酵素に好適なαー グルコシル糖化合物が選ばれる。

例えば、糖転移酵素として、 αーグルコシダーゼ(EC 3.2.1.20)を用いる際には、マルトース、マルトテトラオースなどのマルトオリゴ糖、またはDE約10万至70の澱粉部分加水分解物などが好適であり、シクロマルトデキストリン グルカノトランスフェラーゼ(EC 2.4.1.18)を用いる際には、シクロデキストリンまたはDE1以下の澱粉糊化物からDE約80の澱粉部分加水分解物などが好適であり、 αーアミラーゼ(EC 3.2.1.1)を用いる際には、DE1以下の澱粉糊化物からDE約30のデキストリン、澱粉部分加水分解物などが好適である。

また、反応時のαーダルコシル糖化合物濃度は、 ヘスペリジンに対して約0.5万至50倍の範囲が好 適である。

反応時のヘスペリジン含有版は、ヘスペリジンをできるだけ高濃度に含有するものが望ましく、例えば、ヘスペリジンを、懸濁状で、または、高温で溶解させた、もしくはpH7.0を魅えるアル

カリ側 P H で溶解させた溶液状で高濃度に含有する溶液が適しており、その濃度は約0.005 W/V %以上の高濃度、望ましくは、約0.01 乃至10.0 W/V %合有している溶液を意味する。

本発明に用いる糖転移酵素は、ヘスペリジンとこの酵素に好適な性質のαーグルコシル糖化合物とを含有する溶液に作用させる時、ヘスペリジンを生を分解せずにαーグリコシル ヘスペリジンを生成するものであればよい。

例えば、αーグルコシダーゼは、アタの肝臓、ソパの種子などの動植物組織由来の酵素、または、ムコール(Mucor)属、ペニシリウム(Penicillium)属などに属するカビ、またはサッカロミセス(Saccharomyces)属などに属する酵母などの微生物を栄養培地で培養し得られる培養物由来の酵素が、シクロマルトデキストリン グルカノトランスフェラーゼは、パチルス(Bacillus)属、クレプシーラ(Klebsiella)属などに属する細菌培物由来の酵素が、αーアミラーゼは、パチルス属などに属する細菌、または、アスペルギルス

(Aspergillus) 属などに属するカビ培養物由来の酵素などが適宜選択できる。

これらの糖転移酵素は、前記の条件を満足しさえずれば、必ずしも精製して使用する必要はなく、 通常は、粗酵素で本発明の目的を達成することができる。

必要ならば、公知の各種方法で精製して使用してもよい。また、市販の糖転移酵素を利用することもできる。

使用酵素量と反応時間とは、密接な関係があり、 過常は、経済性の点から約5万至80時間で反応を 終了するように酵素量が選ばれる。

また、固定化された糖転移酵素をパッチ式で操り返し、または連続式で反応に利用することも適宜選択できる。

本発明の反応方法は、ヘスペリジンの仕込濃度 を高めた状態で糖転移酵素を作用させるのが望ま しい。

例えば、ヘスペリジンを懸濁状で反応せしめる場合には、約0.1万至2.0V/V%の懸濁状へスペリ

ジンと適量のαーグルコシル糖化合物とを含有するペスペリジン高含有液を、ρH約4.5万至6.5とし、糖転移酵素の作用しうるできるだけ高温を 体的には、約70万至90℃に維持し、これに糖転を 酵素を作用させると、ペスペリジンがαーグリコシル ペスペリジンに変換するにつれて整濁状ペスペリジンが徐々に溶解し、同時に、αーグリコシル ヘスペリジンが容易に高速度に生成する。

また、例えば、ヘスペリジンをpH7.0を越えるアルカリ側で反応せしめる場合には、pH約7.5万至10.0の水に約0.2万至5.0V/V%のヘスペリジンを加熱溶解し、これに適量のαーグルコシル糖化合物を溶解して得られるヘスペリジン高合育液を、糖転移酵素の作用しうるできるだけ高pH、高温、具体的には、pH約7.5万至10.0、温度約50万至80℃に維持し、これに糖転移酵素を作用させるとαーグリコシル ヘスペリジンが容易に高温度に生成する。

この際、アルカリ性溶液中のヘスペリジンは、 分解を起しやすいので、これを防ぐため、できる

ジン溶液も、酸性水溶液で p H 調整することによりへスペリジンが析出を起し易いので、その p H 調整前に、 α ーグルコシル糖化合物や少量の α ーグリコシル へスペリジンなどを共存させてへスペリジンの折出を抑制しつつ糖転移反応を開始することも有利に実施できる。

また、更に必要ならば、反応的のヘスペリジンの溶解度を高め、ヘスペリジンへの糖転移反応を容易にするために、ヘスペリジン高含有液に水と互いに溶解しうる有機溶媒、例えば、メタノール、エタノール、ロープロパノール、「soープロパノール、ロープタノール、アセトール、アセトンなどを共存させることも適宜選択できる。

このようにして α ー グリコシル へスペリジンを生成せ しめた 反応溶液は、そのままで α ー グリコシル へスペリジン製品にすることもできる。 通常は、反応溶液を濾過、濃縮してシラップ状の、更には、乾燥、粉末化して粉末状の α ー グリコシル へスペリジン製品にする。

だけ遮光、嫌気下に維持するのが望ましい。

更に、前記条件を組み合せる方法、例えば、約0.5万至10.0V/V%のヘスペリジンと適量のαーグルコシル館化合物とを含有するヘスペリジン高含有液をρ H 約7.5万至10.0、温度約50万至80℃に維持し、これに糖転移酵素を作用させると、αーグリコシル ヘスペリジンが容易に高騰度に生成する。

また、ヘスペリジンとして、例えば、約0.1万至1.0規定のカセイソーダ水溶液、カセイカリ水溶液、炭酸ソーダ水溶液、水酸化カルシウム水、アンモニア水などの強アルカリ性水溶液に約0.5万至10.0V/V%の高濃度に溶解させたものを用い、これに塩酸、硫酸などの酸性水溶液を加えて酵素の作用しうるρΗに調整するとともにαーグルコシル糖化合物を加え、電気に壊転移酵素を作用させることは、αーグリコシル ヘスペリジンを容易に高濃度に生成させることとなるので極めて好糖合である。

この際、せっかく高濃度に溶解させたヘスペリ

本製品は、ビタミンP強化剤としてばかりでなく、安全性の高い天然型の黄色着色剤、酸化防止剤、安定剤、品質改良剤、予防剤、治療剤、紫外練吸収剤などとして、飲食物、贈好物、飼料、餌料、抗感受性疾患剤、化粧品、ブラスチック製品などの用途に有利に利用できる。

更に、精製されたαーグリコシル ヘスペリジン製品を製造する場合には、多孔性合成吸着剤による吸着性の差を利用してαーグリコシル ヘスペリジンとαーグルコシル糖化合物などの夾雑物とを分離して精製すればよい。

本発明でいう多孔性合成樹脂とは、多孔性で広い吸着表面積を有し、かつ非イオン性のスチレンージピニルベンゼン重合体、フェノールーホルマリン樹脂、アクリレート樹脂、メタアクリレート樹脂などの合成樹脂であり、例えば、市販されているRohm & Haas社製造の商品名アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-2、アンパーライトXAD-8、アンパーライトX

A D - 11、アンパーライト X A D - 12、三菱化成 工業株式会社製造の商品名ダイヤイオンHP - 10、 ダイヤイオンHP - 20、ダイヤイオンHP - 30、 ダイヤイオンHP - 40、ダイヤイオンHP - 50、 I M A C T I 社製造の商品名イマクティ S y n -42、イマクティ S y n - 44、イマクティ S y n -46などがある。

本発明のαーグリコシル ヘスペリジンを生成せしめた反応液の精製方法は、反応液を、例えば、多孔性合成吸着剤を充填したカラムに通液すると、αーグリコシル ヘスペリジンおよび比較的少量の未反応ヘスペリジンが多孔性合成吸着剤に吸着するのに対し、多量に共存するαーグルコシル調化合物、水溶性糖類は吸着されることなくそのまま流出する。

必要ならば、蟾転移酵素反応終了後、多孔性合成吸着剤に接触させるまでの間に、例えば、反応被を加熱して生じる不溶物を濾過して除去したり、ケイ酸アルミン翻マグネシウム、アルミン酸マグネシウムなどで処理して反応胺中の蛋白性物質な

この有機溶媒によるαーグリコシル ヘスペリジンおよび未反応ヘスペリジンの溶出操作は、同時に、多孔性合成吸着剤の再生操作にもなるので、この多孔性合成吸着剤の繰り返し使用を可能にする。

また、本発明の多孔性合成吸着剤による精製は、αーグルコシル糖化合物、水溶性糖類だけでなく、水溶性の塩類などの夾雑物も間時に除去できる特長を有している。このようにして得られるαーグリコシル ヘスペリジンは、次の特長を有している。

- (1) ヘスペリジンと比較してαーグリコシル ヘスペリジンは、水溶性が極めて大きい。
- (2) ヘスペリジンと比較してαーグリコシル ヘスペリジンは、耐光性、安定性が大きい。
- (3) α グリコシル ヘスペリジンは、体内の 酵素によりヘスペリジンとグルコースとに加 水分解され、ヘスペリジン本来の生理活性 (ビタミンP)を示す。また、ビタミンCと の併用により、それらの持つ生理活性を増強

とを吸着除去したり、強酸性イオン交換樹脂(H型)、中塩基性または弱塩基性イオン交換樹脂(OH型)などで処理して脱塩するなどの精製方法を組み合せて利用することも随意である。

前述のようにして、多孔性合成吸着列カラムに 選択的に吸着したαーグリコシル ヘスペリジンとは、希アルカリ、水などで洗浄した後、比較的少量の有機溶媒と水との混合液、例えば、メタノール水、エタノール水などを通液すれば、まず、αーグリコシル ヘスペリジンが溶出し、通液を増すか有機溶媒、産高めるかすれば未反応へスペリジンが溶出してくる。

この α ー グリコシル へスペリジン 高含有溶出 版を 蒸溜処理 して、まず 有機溶媒を 溜去した後、 適当な 濃度にまで 濃縮すれば α ー グリコシル へスペリジンを主成分とするシラップ 状製品が得られる。 更に、これを乾燥し粉末化することによって、 α ー グリコシル へ スペリジンを主成分とする粉末状製品が得られる。

させることができる。

(4) αーグルコシル糖化合物を含有する製品の場合には、αーグリコシル ヘスペリジンの効果を発揮するのみならず、αーグルコシル糖化合物が賦形、増量効果や、甘味効果を発揮することができ、また、αーグリコシルへスペリジンの効果を発揮することができ、また、実質的に無味、無臭なので自由に調味、調香することができる。

これらの特長から、αーグリコシル へスペリンは安全性の高い天然型のピタミンP強化剤としてばかりでなく、黄色着色剤、酸化防止剤、安定剤、品質改良剤、ウィルス性疾患、細菌性疾患、循環器疾患、悪性腫瘍など感受性疾患の予防剤、治療剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、嗜好的、飼料、餌料、抗感受性疾患剤、美肌剤、色白剤など化粧品、更には、プラスチック製品などに有利に利用することができる。

その他、タバコ、トローチ、肝油ドロップ、複合ビタミン剤、口中情涼剤、口中番錠、うがい薬、経管栄養剤、内服薬、注射剤、練歯みがき、口紅、リップクリーム、日焼け止めなど各種固状、ペースト状、液状の嗜好物、感受性疾患の予防剤、治療剤、すなわち、抗感受性疾患剤、美肌剤、色白剤などの化粧品などに配合して利用することも有利に実施でき、更には、紫外線吸収剤、劣化防

止剤などとしてプラスチック製品などに配合して 利用することも有利に実施できる。

投与量は、含量、投与経路、投与頻度などによって適宜調節することができる。通常、αーグリコシル ヘスペリジンとして、成人1日当り、約0.0

01乃至10.0グラムの範囲が好適である。

また、化粧品の場合も、大体、前途の予防剤、 治療剤に準じて利用することができる。

α - グリコシル へスペリジンを利用する方法 としては、それらの製品が完成するまでの工程で、 例えば、混和、混控、溶解、浸渍、浸透、散布、 塗布、喷霧、注入など公知の方法が適宜選ばれる。

以下、本発明のαーグリコシル ヘスペリジンの一例を実験で説明する。

実験 1 αーグリコシル ヘスペリジンの調製

(1) 繪転移反応

ヘスペリジン1重量部およびデキストリン(DE20)6 重量部に水5,000重量部を加えて加熱、溶解し、これにパチルス・ステアロサーモフィルス (Bacillus stearothersophilus)由来のシクロマルトデキストリン グルカノトランスフェラーゼ (株式会社林原生物化学研究所販売)をデキストリングラム当り20単位加え、ρH6.0、70℃に維持して18時間反応させ、その後、加熱失活させ、αーグリコシル ヘスペリジン

含有液を得た。

(2) 精 製

(1)の方法で得た反応液を濾過し、濾液を多孔性合成吸着剤、商品名ダイヤイオンHP-10 (三菱化成工業株式会社販売)を充塡したカラムにSV2で遺液した。このカラムを水で洗浄後、50 V/V % エタノールを通液し、この溶出液を濃縮して溶解を溜去し、粉末化して淡黄色のαーグリコシル ヘスペリジン標品[I]を原料のヘスペリジン重量に対して約130%の収率で得た。

(3) アミラーゼによる加水分解

(2)の方法で得たαーグリコシル ヘスペリジン標品[I]を水に1V/V%に溶解し、これにグルコアミラーゼ(ΕC 3.2.1.3、生化学工業株式会社販売)を該標品グラム当り100単位加え、pH5.0、55℃に維持して5時間反応させた。反応被を加熱して酵素を失活させ、濾過し、濾を多孔性合成吸着剤、商品名ダイヤイオンHPー10(三菱化成工業株式会社販売)のカラムにSV2で過被した。その結果、溶液中のαーグリ

コシル へスペリジンと未反応へスペリジンと 物多孔性合成吸着することなく流出した。次いで、カラムを水で遺液、洗浄した後、エタノール水溶液 濃度を段階的に高めながら遺液し、 αーグリコシル へスペリジン 爾色の αーグリコシル へスペリジン 電量に対して約70%の収率で得た。

また、グルコアミラーゼに代えて、βーアミラーゼ(EC 3.2.1.2)、(生化学工業株式会社販売)を用いて、前述の方法に準じて、αーグリコシル ヘスペリジン標品[I]を加水分解し、精製、濃縮、粉末化して、淡黄色のαーグリコシル ヘスペリジン器品[III]を原料のヘスペリジン量量に対して約70%の収率で得た。

実験 2 αーグリコシル ヘスペリジンの理化 学的性質

(1) 水溶性の向上

実験 1 (1) の方法で糖転移反応し調製したαー

合と間じ286ns付近に吸収幅大を有していた。

(4) 赤外線吸収スペクトル

KBr 錠剤法によって、αーグリコシル へスペリジン標品の赤外線吸収スペクトルを調べた。αーグリコシル ヘスペリジン標品[I]の結果を第2図に示す。

- (5) 加水分解に対する安定性
- (a) α-グリコシル ヘスペリジン標品は、プタの肝臓由来のα-グルコシダーゼ(Ε C 3.2.1.20) により加水分解され、ヘスペリジンとD-グルコースとを生成する。
- (b) β-グルコシダーゼによっては加水分解されない。
- (6) 薄層クロマトグラフィー
- (a) 分析方法

ブレート;メルク社製、

商品名キーゼルゲル80F254

展開溶媒; n ープタノール:酢酸:水=4:2:1 発色剤 ;14/49% 硫酸第二セリウム104/49% グリコシル ヘスペリジン含有液と、この方法で用いる酵素を予め加熱失活させて実験 1 (1)の方法に準じて処理した対照液とを、4℃の冷室に2日間放置したところ、対照液では、ヘスペリジンが析出して白濁したのに対し、αーグリコシル ヘスペリジン含有液は透明のままであった。

従って、糖転移反応により生成したαーグリコシル ヘスペリジンは、水溶性が著しく向上している。

(2) 潜剤に対する溶解性

αーグリコシル ヘスペリジン標品は、水、 0.1規定カセイソーダ、0.1規定塩酸に易溶、メ タノール、エタノール微溶、エーテル、ペンゼ ン、クロロホルムに不溶。

(3) 紫外線吸収スペクトル

αーグリコシル ヘスペリジン 標品を0.1規 定力セイソーダ溶液に溶解して、紫外線吸収スペクトルを調べたところ、標品[II]、標品[II] および課品[III]のいずれも、ヘスペリジンの場

硫酸水溶液

(b) 分析 箱果

αーグリコシル ヘスペリジン標品を分析したところ、標品[I]の場合には、RfC.69のヘスペリジンのスポット以外に、新たに、RfO.48、0.34、0.22、0.16、0.10、0.04および原点にスポットが認められ、標品[II]の場合には、RfO.48のスポットが認められ、標品[III]の場合には、RfO.48、0.34のスポットが認められた。

以上の理化学的性質から、標品[I]、標品
[II]および標品[III]に含まれるRf0.48を示す
物質は、ヘスペリジン1モルにローグルコース
残器が1モルα結合したαーグルコシル
ヘスペリジンと判断され、標品[I]および標品
[III]に含まれるRf0.34を示す物質は、ヘスペリジン1モルにローグルコースが2モルα結合したαージグルコシル ヘスペリジンと判断され、同様に、標品[I]に含まれるRf0.22
以下の複数のスポットを示す物質は、ヘスペ

リジン1 モルに D ーグルコース残基が3 モル以 上α結合したαーオリゴグルコシル ヘスペ リジンであると判断される。

このように、本願発明のαーグリコシル ヘスペリジンはヘスペリジンにDーグルコース残基が等モル以上α結合した水溶性良好な 新規ヘスペリジン糖誘導体であって、生体内 に摂取されると、αーグルコシダーゼによっ て容易に加水分解され、ヘスペリジン本来の 生理活性を発揮する。

実験 3 急性毒性

7周令のdd系マウスを使用して、実験 1 (2) の方法で期製したαーグリコシル へスペリジン 標品[I]を経口投与して急性毒性テストをした ところ、5gまで死亡例は見られず、これ以上の 投与は困難であった。

従って、本物質の毒性は極めて低い。なお、実験1(3)の方法で調製したαーグリコシル へスペリジン標品[II]を用いて本テストを行ったところ、同様の結果を得、毒性の衝めて低いこ

ペリジンなどの α ーグリコシル へスペリジンに転換していた。反応被を加熱して酵素を失活させ、濾過し、濾液を、常法に従って、イオン交換樹脂 (日型および 〇 日型) で脱塩精製し、濃燥してシラップ状の α ーグルコシル 糖化合物を含有する α ーグリコシル へスペリジン製品を、固形物当り原料重量に対して約90 %の収率で得た。

本品は、ビタミンP強化剤としてばかりでなく、安全性の高い天然型の黄色着色剤、酸化防止剤、安定剤、品質改良剤、予防剤、治療剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、嗜好物、飼料、餌料、抗感受性疾患剤、化粧品、プラスチック製品などの用途に有利に利用できる。

実施例 A - 2 α - グルコシル ヘスペリジン 実施例 A - 1 の方法に準じて調製したシラップ状のα - グルコシル糖化合物を含有するα - グリコシル ヘスペリジン製品1 重量部を水4 重量部に溶解し、これにグルコアミラーゼ(EC 3.2.1.3、生化学工業株式会社販売)をα - グ

とが判明した。

以下、本発明の実施例として、 α ー グリコシル へスペリジンの製造例を実施例 A で、 α ー グリコシル へスペリジンの用途例を実施例 B で述べる。

リコシル ヘスペリジン製品固形物グラム当り 100単位加え、50℃、5時間反応させた。反応液 を薄層クロマトグラフィーで分析したところ、 αーグリコシル ヘスペリジンは、αーグルコ シル ヘスペリジンに転換していた。

αーグルコシル ヘスペリジンを酸で加水分解したところ、ヘスペレジン1モルに対し、Lー

ラムノース1モル、Dーグルコース2モルを生成 し、また、αーグルコシル へスペリジンに、 プタの肝臓から抽出し部分精製したαーグルコ シダーゼを作用させると、ヘスペリジンとDー グルコースとに加水分解されることが判明した。

本αーグルコシル ヘスペリジンは、高度に精製された水溶性の高いビタミンP強化剤として、また、黄色着色剤、酸化防止剤、安定剤、品質改良剤、予防剤、治療剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、嗜好物、抗感受性疾患剤、化粧品などに有利に利用できる。

実施例 A - 3 α - グリコシル ヘスペリジン ヘスペリジン1 重量部を水500 重量部に p H 9. 5 で加熱溶解し、別にデキストリン(D E 8) 10 重量部を水10 重量部に加熱溶解し、次いで、これら溶液を混合し、これにシクロマルトデキストリン グルカノトランスフェラーゼをデキストリングラム当り30単位加え、 p H 8.2、85 ℃に維持して撹拌しつつ40 時間反応させた。

反応被を薄覆クロマトグラフィーで分析した

階好物、飼料、餌料、抗感受性疾患剤、化粧品、 プラスチック製品などの用途に有利に利用でき る。

実施例 A - 4 α - グリコシル ヘスペリジン (1) α - グルコシダーセ標品の調製

マルトース4 V/V%、リン酸1カリウム0.1 V/V%、硝酸アンモニウム0.1 V/V%、硫酸マグネシウム0.05 V/V%、塩化カリウム0.05 V/V%、ボリベプトン0.2 V/V%、炭酸カルシウム1 V/V%(別に乾熱越園して植蘭時に無菌的に添加)および水からなる液体培地500重量部にムコール・ジャパニカス(Nucor javanicus) I F O 4570を温度30 ℃で44時間振盪培養した。培養終了後、園糸体を採取し、その湿菌糸体48重量部に対し、0.5 M 酢酸緩衝液(p H 5.3)に溶解した4 M 尿素液500重量部を加え、30 ℃で40時間静置した後、流空0.9 飽和とし、4 ℃で一複放置して生成した場析物を濾取し、0.01 M 酢酸緩衝液(p H 5.3)50 重量部に懸濁溶解した後、遠心分

ところ、ヘスペリジンの約80%がα - グリコシ ル ヘスペリジンに転換していた。

反応被を加熱して酵素を失活させ、濾過し濾液を多孔性合成吸着剤、商品名アンバーライト XAD-7(Rohm & Haas社製造)のカラムにSV1.5で通液した。

その結果、溶液中のαーグリコシル ヘスペリジンと未反応ヘスペリジンとが多孔性合成吸着剤に吸着し、デキストリン、オリゴ糖、塩類などは吸着することなく流出した。

このカラムを水で通被、洗浄した後、50V/V%メタノールを 遺被して、 αーグリコシル へスペリジンおよびヘスペリジンを溶出し、これを 張縮し、粉末化して、粉末状αーグリコシル ヘスペリジン製品を原料のヘスペリジン重量に 対して約120%の収率で得た。

本品は、水溶性の高いビタミンP強化剤としてばかりでなく、安全性の高い天然型の黄色着色剤、酸化防止剤、安定剤、品質改良剤、予防剤、治療剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、

離して上清を採取し、αーグルコシダーゼ標品 とした。

(2) αーグリコシル ヘスペリジンの調製

へスペリジン5重量部を0.5規定カセイソーダ 溶液100重量部に加熱溶解し、これに0.01規定 塩酸溶液を加えて p H 9.5にするとともにデキストリン(DE30) 20重量部を加え、直ちに(1) の方法で調製した α - グルコシダーゼ標品10重量部を加え、p H 8.5に維持して撹拌しつつ55 ∇ で40時間反応させた。

反応被を薄層ペーパークロマトグラフィーで 分析したところ、ヘスペリジンの約60%がαー グリコシル ヘスペリジンに転換していた。

反応液を実施例A-3と間様に精製し、機略、粉末化して粉末状α-グリコシル ヘスペリジン製品を原料のヘスペリジン重量に対して約11 0%の収率で得た。

本品は、実施例Aー3の場合と同様に、水溶性の高いビタミンP強化剤としてばかりでなく、 安全性の高い天然型の黄色着色剤、酸化防止剤、 安定剤、品質改良剤、予防剤、治療剤、紫外線吸収剤などとして、各種用途に利用できる。

実施例 B-1 ハードキャンディー

還元要芽糖水飴(林原商事株式会社販売、登録商標マピット)1.500 重量部を加熱し、減圧下で水分約296以下になるまで濃糖し、これにクエン酸15 重量部および実施例A - 3 の方法で得た粉末状α - グリコシル へスペリジン1 重量部および少量のレモン香料を混和し、次いで常法に従って、成形、包装してハードキャンディーを得た。

本品は、ビタミンPを強化した黄色のレモンキャンディーであって、低う蝕性、低力ロリーである。

実施例 B-2 フキの水煮

フキを皮むきし、適当な長さに切断して、弾い食塩水に数時間浸し、これを実施例 A - 1 の方法で得たシラップ状 α - グリコシル へスペリジンと青色1号とを配合して調製した緑色着色料を含有する液で煮込んで、緑色の鮮かなフ

本品はビタミンPを強化した甘味料で健康食品として好適である。

実施例 B-5 サンドクリーム

結晶性 αーマルトース(林原株式会社製造、登録商標ファイントース)1,200重量部、ショートニング1,000重量部、実施例 A ー 3 の方法で得た粉末状αーグリコシル へスペリジン10重量部、レシチン1重量部、レモンオイル1重量部、パニラオイル1重量部を常法により混和してサンドクリームを製造した。

本品は、ビタミンP独化、黄色着色したサンドクリームで、口当り、溶け具合、風味とも良好である。

実施例 B-6 錠 剤

アスコルビン酸20重量部に結晶性βーマルトース13重量部、コーンスターチ4重量部および実施例 A - 2 の方法で得た粉末状αーグルコシルへスペリジン3重量部を均一に混合した後、直径12mm、20 R 杵を用いて、打錠し錠剤を得た。本品は、アスコルビン酸とαーグルコシル

キの水煮を得た。

本品は、各種和風料理の材料として色どりを添えるとともに、食物繊維としての生理効果をも発揮する。

実施例 B-3 求 肥

モチ種政粉1重量部に水1.2重量部を混合し、加熱期化しつつ、これに砂糖1.5重量部、結晶性βーマルトース(林原株式会社製造、登録時様サンマルト)0.7重量部、水約0.3重量部および実施例A-1の方法で得たシラップ状α-グリコシル ヘスペリジン0.2重量部を混和し、以後、常法に従って、成形、包装して求肥を製造した。

本品は、風味、口当りとも良好な求肥で、きびだんご風の和菓子である。

実施例 B-4 混合甘味料

はちみつ100重量部、異性化館50重量部、黒砂糖2重量部および実施例A-4の方法で得た粉末状αーグリコシル ヘスペリジン1重量部を複合して混合甘味料を得た。

ヘスペリジンとの複合ビタミン剤で、アスコル ビン酸の安定性もよく、飲み易い錠剤である。

実施例 B-7 カブセル剤

酢酸カルシウム・一水塩10重量部、L-乳酸マグネシウム・三水塩50重量部、マルトース57重量部、実施例 A-2の方法で得たαーグルコシル ヘスペリジン20重量部及びエイコサペンタエン酸20%含有γーシクロデキストリン包接化合物12重量部を均一に混合し、類粒成形機にかけて類粒とした後、常法に従って、ゼラチンカプセルに封入して、一カプセル150g及入のカプセル剤を製造した。

本品は、血中コレステロール低下剤、免疫賦活剤、美肌剤などとして、感受性疾患の予防剤、 治療剤、健康増進用食品などとして有利に利用 できる。

実施例 B-8 軟膏

酢酸ナトリウム・三水塩1重量部、DL-乳酸 カルシウム4重量部をグリセリン10重量部と均 ーに混合し、この混合物を、ワセリン50重量部、 木口ウ10重量部、ラノリン10重量部、ゴマ油14.5重量部、実施例 A - 4 の方法で得たαーグリコシル へスペリジン1重量部及びハッカ油0.5重量部の混合物に加えて、更に均一に混和して軟膏を製造した。

本品は、日焼け止め、美肌剤、色白剤などとして、更には外傷、火傷の治極促進剤などとして有利に利用できる。

実施例 B-9 注 射 剤

実施例A-2の方法で得たα-グルコシルへスペリジンを水に溶解し、常法に従って、精製進過してパイロゲンフリーとし、この溶液を20mL容アンプルにα-グルコシル ヘスペリジン50mgになるように分注し、これを減圧乾燥し、対入して注射剤を製造した。

本注射剤は、単体で、または、他のビタミン、ミネラルなどと混合して筋肉内又は静脈内に投与できる。また、本品は、低温貯蔵の必要もなく、使用に際しての生理食塩水などへの溶解性は極めて良好である。

びリポフラビン0.01重量部からなる配合物を調製する。この配合物24gずつをラミネートアルミ製小袋に充填し、ヒートシールして経営栄養剤を調製した。

本経管栄養剤は、一袋を約300万至500aLの水に溶解し、経管方法により鼻腔、胃、腸などへの経口的又は非経口的栄養補給液としても有利に利用できる。

実施例 B-12 浴 用 剤

DL-乳酸ナトリウム21重量部、ビルビン酸ナリトウム8重量部、実施例A-1の方法で得た
αーグリコシル ヘスペリジン5重量部及びな
タノール40重量部を、精製水28重量部及びな
を 共、香料の適量と混合し、浴用剤を製造した。
本品は、美肌剤、色白剤として好適であり、
入浴用の場に100万至10,000倍に希釈して利用する
は、洗顔用水、化粧水などに希釈して利用する
ことも有利に実施できる。

実施例 B-13 乳 胺

実施例 B-10 注 射 剤

塩化ナトリウム6重量部、塩化カリウム0.3重量部、塩化カルシウム0.2重量部、乳酸ナトリウム3.1重量部、マルトース45重量部及び実施例A-2の方法で得たαーグルコシル ヘスペリジン1重量部を水1,000重量部に溶解し、常法に従って、精製濾過してパイロゲンフリーとし、この溶液を減固したブラスチック容器に250 πLずの充填して注射剤を製造した。

本品は、ビタミンP補給としてだけでなく、 カロリー補給、ミネラル補給のための注射剤で、 病中、病後の治療促進、回復促進などに有利に 利用できる。

実施例 B-11 経営栄養剤

結晶性 αーマルトース20 重量部、グリシン1. 1 重量部、グルタミン酸ナトリウム0.18 重量部、 食塩1.2 重量部、クエン酸1 重量部、乳酸カルシ ウム0.4 重量部、炭酸マグネシウム0.1 重量部、 実施例 A - 3 の方法で得たαーグリコシル へ スペリジン0.1 重量部、チアミン0.01 重量部及

ポリオキシエチレンベヘニルエーテル 0.5 重量部、テトラオレイン酸ポリオキシエチレンソルピトール1重量部、親油型モノステアリン酸グリセリン1重量部、ピルピン酸 0.5 重量部、ペペニルアルコール 0.5 重量部、アポガド油1 重量部、実施例 A ー 3 の方法で得た αーグリココシル へスペリジン1 重量部、ピタミンE 及び防腐し、これにLー乳酸ナトリウム1 重量部、1.3ープチレングリコール5 重量部、カルボキシピニルボニマー 0.1 重量部及び精製水85.3 重量部を加え、ホモゲナイザーにかけ乳化し、更に香料の適量を加えて撹拌混合し乳液を製造した。

本品は、日焼け止め、藥肌剤、色白剤などとして有利に利用できる。

実施例 B-14 クリーム

モノステアリン酸ポリオキシエチレングリコール2重量部、自己乳化型モノステアリン酸グリセリン5重量部、実施例 A - 2 の方法で得たαーグルコシル ヘスペリジン2 重量部、流動パラ

フィン1 重量部、トリオクタン酸グリセリル10 重量部及び防腐剤の適量を、常法に従って加熱 溶解し、これにLー乳酸2重量部、1.3ープチレ ングリコール5 重量部及び精製水66 重量部を加 え、ホモゲナイザーにかけ乳化し、更に香料の 適量を加えて撹拌混合しクリームを製造した。

本品は、日焼け止め、美肌剤、色白剤などとして有利に利用できる。

[発明の効果]

また、このαーグリコシル ヘスペリジンが、 ヘスペリジンとαーグルゴシル糖化合物とを含有 する溶液に、糖転移酵素を作用させる生化学的手 法により容易に生成できることより、経済性に優

リジンの工業的製造法とその用途の確立は、飲食品、化粧品、医薬品、プラスチック産業における 工業的意義が極めて大きい。

4. 図面の簡単な説明

第 1 図は、本発明の一例として、αーグリコシル へスペリジン標品[I]の赤外線吸収スペクトルを示す。

第2図は、本発明の一例として、αーグリコシ ル ヘスペリジン標品[II]の赤外線吸収スペクト ルを示す。

特許出願人

株式会社林原生物化学研究所

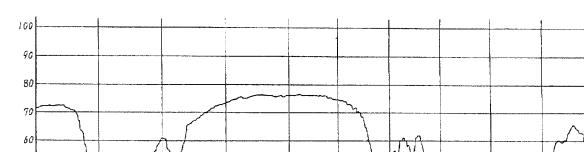
代表者 杯 原



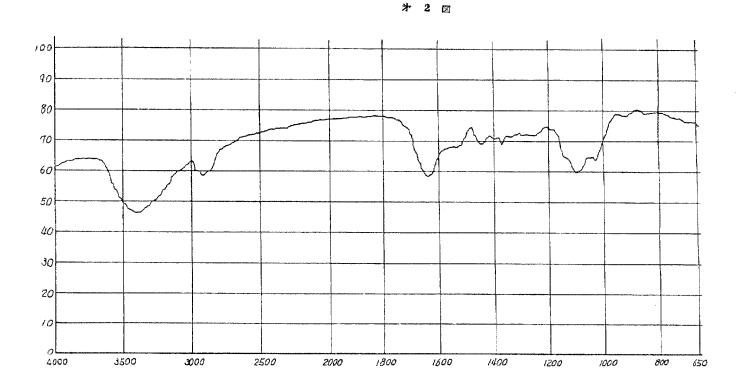
更に、ヘスペリジンの仕込濃度を高めて反応させることができ、 αーグリコシル へスペリジンを容易に高濃度に生成しうることを見い出し、併せて、この反応液の精製に際して、反応液を多孔性合成吸着剤と接触させて αーグリコシル へスペリジンの大量製造を作り、 αーグリコシル へスペリジンの大量製造を極めてある。

また、このようにして得られるαーグリコシルへスペリジンは、水溶性良好、耐光性・安定性良好、充分な生理活性を発揮するなどの特徴を有しており、安全性の高い天然型のビタミンP強化剤としてばかりでなく、黄色着色剤、酸化防止剤、安定剤、品質改良剤、予防剤、治療剤、紫外線、収剤、劣化防止剤などとして、飲食物、嗜好物、飼料、餌料、抗感受性疾患剤、美肌剤、色白剤など化粧品、更には、プラスチック製品などに有利に利用される。

従って、本発明によるα-グリコシル ヘスペ



液 数(CM-1)



手 続 補 正 書 (方式)

平成1年10月25日

特許庁長官 吉 田 文 毅 殿

事件の表示
 平成1年特許額第141902号

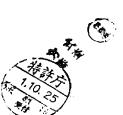
発明の名称
 α-クリコシルへスペリジンとその製造方法並びに用途

3. 補正をする者 事件との関係 特許出額人 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 ペナンパラとイブウカガク 株式会社林原生物化学研究所 代表者 林 原 健全

4. 補正命令の日付平成1年9月26日(発送日)

5. 補正の対象 図 面 全 図

6. 補正の内容 別紙のように図面を補正しま



【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成9年(1997)3月31日

【公開番号】特開平3-7593

【公開日】平成3年(1991)1月14日

【年通号数】公開特許公報3-76

【出願番号】特願平1-141902

【国際特許分類第6版】

C12P 19/60

A23L 1/30

A61K 7/00

31/70 ABF CO7H 17/07

[F 1]

C12P 19/60 7432-4B A23L 1/30 Z 9359-4B F 9271-4C A61K 7/00 X 9271-4C

31/70ABF 8314-4C CO7H 17/07 8615-4C

手腕補正審

平底8年5月25日

特許疗長官 者 川 佑 三 駅



1、 非付办表示

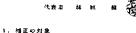
學或人生物作願数141902日

2. 発質の名跡

ローグリコシル ヘスペリジンとその製造方法並びに消逸

8、 雑ほをする者

家作との職体 株酢出際人 機山県関山市下石井17日2番3号 株式会社林源生物化学研究所



5. 補正の内容

明撰备企义

明綱郡念文を、射紙のように植正します。

1. 発明の名称

α~グリコシル ヘスペリジンとその製造方法並びに用途

2. 特許請求の問題

(1) ヘスペリジンドDーグルコース推奨が等モル以上を結合しているューゲリコ シル ヘコペリゼン

兜 瀬 査

- (2) a グリコシル ヘスペリクンが、始化間、黄色着色剤、酸化防止剤、安定 州、紫外韓県収耕、美肌渕、立たは色白刺である特許語求の範囲第(1)項記載の ローデリコシル ヘスペリラン。
- (1) ヘスペリジンと αーグルコシル機化合物とを含有する前額に、糖転移酵素を 作用させて、a-グリコシル ヘスペリジンを生成せしめ、これを禁取するこ とを軽微とするα一グリコシル ヘスペリジンの製造方板。
- (4) 糖転移酵素を作用させ、次いで、アミラーゼを作用させ、 α グルコシル ヘスペリジンおよび/また住在一マルトシル ヘスペリジンを生成せしめ、こ れる禁事することを特徴とするローグリコシル ヘスペリソンの製造力法。
- (5) ヘスペリジンとモーダルコシル特化会省とを含有する溶液に、探転事務策を 作用させて、α・グリコシル ヘスペリジンを生成せしめ、水いで、この検査 そ多孔性合成級勢利に接触をせて推奨し、ローグリコシル ヘスペリジンを保 取することを特徴とするαーグリコシル ヘスペリジンの観燈方法。
- (B) ヘスペリジンにDーグルコース鉄路が等モル以上の結合しているαーグリコ シル ヘスペリジンを含有せしめた組成物。
- (7)組成物が、致食物、抗酪受性疾患剂、または化粧品であることを妨養とする 特許請求の限囲第(4)項記載の組成物。
- (8) 組成物が、αーグリコシル ヘスペリジンとともに、チアミン、リボフラビ ン、ビタミンCおよびビタミンBから遊ばれるビタミンを含有することを劈散 とする特許開次の福州第(前項または第(7)項記載の組成権。
- (9) αーグリコシル ヘスペリジンを、ヘスペリジンを含有する水溶板に共存さ せることを特徴とするヘスペリジンの折用抑制方法。
- 1. 発明の評価な選択

(産業上の利用分野)

本発明は、新風αーグリコシル へスペリジンと、その要走方は、非びに圧塞 に関し、更に詳細には、ヘスペリジンドローグルコース技能が落モル型 La 統合 しているモークリコシル へスペリジン、および、ヘスペリジンとローグルコシ ル質化を物とを含有する保護に、超転影解系を作品をせて、新雄ローグリコシル へスペリジンを使成せしめ、これを協致することを付款とするローグリコシル へスペリジンを使成せしめ、これを協致することを付款とするローグリコシル へスペリジンを会所といることを特徴とする統制、加工会品などの教女権、格受性 新史の予防料、指標預などの抗感受性医療、美味剤、包含例などの化粧品など 本種組成物への用途に関する。

[従来の技術]

へスペリジンは、次に来す北学株舎を有い、毛螺魚管の強化、摂血手物、血圧 関数などの生態作用を持つビタミンPとして、また、変色色素として古くから知られ、食品、医薬品、化薬品などに利用されている。

ヘスペリジンの化学構造

ビナミンPは、集体内で、ビナミンCの生態情性、例えば、生体被合加減の主 成分であるコラーゲンの合脈に必要なプロリンやリジンのヒドロキシルを反応に 関与し、また、例えば、チトナロームCのPe****を運光してPe***にするなどの概化 な元以床に関与し、更には、自由時等加による多数考徴作列に関与するなどの物

引潮を弾立して、本発術を発展した。

また、この無転移区のにより生成したα・グリコシル へスペリジンを得望するに際しては、その点応募製と多れ性合成級着無とを接触させ、その吸着性の違いを利用することにより、有限に携型できることも見い出し、本発明を発成した

従って、本条明のα・グリコシル ヘスペリジンの製造力法は、従来技術の欠点を一体に解析し、その工業化の実現を極めて容易にするものである。

別下、李元明を、葬職に説明する。

本発用に用いるヘスペリワンとしては、変更に情報されたヘスペリジンに服る を要はなく、ヘスペリワンと、例えば、シトロニン、ナリンワン、ルチンなどの フラボノイド取物体との配合物、更には、ヘスペリジンを含有している各種植物 由来の曲出物、ジュース、またはその部分練製物などが、達度使用できる。

植物能識としては、例えば、柑橘質の梨葉、単皮、生無具などが、有利に利用で含ま。

本的別に用いるホーダルコシル物化合物としては、同時に用いる物数は藤素によってヘスペリジンからローグリコシル ヘスペリジンを生成することのできるものであればよく、例えば、フミロース、アキストリン、シクロアキストリン、マルトキリゴ電などの練粉部分加木分解物、更には、後化製物、微化製物などが、減重者ばれる。

使って。 α - グリコシル へスペリジンの生成を容易にするためには、類似移 経常に任道な α - グルコシル第化合物が遅ばれる。

形えば、機能料理者として、αーダルコンダーゼ(R C 3.2.1.20)を用いる場 には、マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオースなどのマルトオリゴ 機、またはD B 261日万年7Gの開発機会加水分配能などが軽減であり、シクロマル トデキストリン グルカノトランスフェラーゼ(B C 2.4.1.18)を開いる際には 、ンクロデキストリンまたはD B 1以下の競技関心性からD 8 件60の課題部分が加水 分解機などが軽減であり、αーアミラーゼ(B C 3.2.1.1)を用いる際には、D F 1以下の製料機化使からD E 2636のデオストリン、製剤部分加水分解物などが、 経過である。 強作用が知られており、生体の健康維持、増加に重要な在表をしている。

へスペリジンの用途は、単に敬養薬としてのピタミンド液化剤にとどまらず、 その化学機構、生態作用から、単独で、または他のピクミンなどと併用して、利 えば、黄色染色料、酸化防止剤、安定剤、品質変良料、実料維製収制などとして 飲食物などに、また、ウィルス性悪思、細菌性疾制、腹端部疾患、属性腫瘍など 都染色疾患の手動剤、治療剤、すなわち技術支性疾患側に、更には、黄色変色失 、安定剤、酸化防止剤、学外維限限剂、メラニン組成抑制剤などとして美肌剤、 色白剤などの化粧品にまで及び、その指金機能は脂砂で広い。

しかしながら、ヘスペリワンは水に維持で、季夏では50Lの水にわずか1g程度(約0.4028/79%) しか除けず、使用上圧離を振めている。

これを重要する方法としては、ヘスペリジンにジメチル範疇を作用させ、ヘスペリジンをメチル誘導体にして、水発性を増大する方法が知られている。

しかしながら、この方法は、有象化学的手法により行われ、反応に有益なジメ チル貨幣を使用することから、得られる職事体の特異に製造の関盤が作い、その 無考性、黄素性の環保、経済性などの点で異足すべきものではなかった。また。 得られるメチル誘導体が音味を行している欠点もある。

[発明が解決しようとする熟題]

従来のヘスペリジン、またはその減減体の欠点を解消し、水清性に優れ、実質 的に無味、弱臭で、毒性の原本もなく、加えて、生体内で生理症性を充分発揮し うるヘスペリジン務準体の実現が強く望まれている。

[舞組を解決するための手膜]

本条明は、上配欠さを離消するためのものであって、とりわけ、血化学的手法 を利用して、新規ペスペリジン酸等体を目指して製室研究した結果に差づくもの である。

その断視、ヘスペリジンとαーダルコシル酸化合物とを含有する障礙に、糠を防悪を作用させることにより、水酸性に低れ、実質的に無味、無臭で、物性の 勝念もなく、生体内で容易に加水分解され、ヘスペリジン不来の生態無性を発得 する前萬αーグリコシル ヘスペリジンを生成することを見い出し、その解素方 法、並びに動食物、減受性疾患の予防剤、治療剤、化製品など、各種組成物への

また、反応19のα-グルコシル器化合物値度は、ヘスペリジンに射して約6.5万 至58備の製調が、好通である。

反応時のヘスペリジン含有核は、ヘスペリジンをできるだけ高濃度に含有する ものが讃ましく、例えば、ヘスペリジン本、機動状で、または、高級で有解させ た、もしくはpH7.0を規えるアルカリ側pHで解解させた終度状で、ヘスペリジ ンを高濃度に合わする解解が進しており、そのヘスペリジンの無度は約0.0059/9 外以上の高濃度、限ましくは、約0.01万盃10.09/9米含有している解説を意味する

本規則に用いる機能整線素は、ヘスペリジンと、この資素に好適な修賞のロー グルコシル軸化合権とを、含有する需要に存用させる時、ヘスペリジンを分解せ ずにローグリコシル へスペリジンを生成するものであればよい。

例えば、αーグルコンダーゼは、ブタの肝臓、ソパの様子などの動、相検勧能 由来の酵素、または、ムコール(Fixor)類、ペニシリウム (Penicilities) 異な どに関するかぜ、またはサッカロミセス (Saccharsavces) 異などに関する酵母な どの発生物を更要基準は下特徴し得られる粒母物由丸の粉葉が、シャロマルトデキ ストリン グルカノトランスフェラーゼは、パチルス (Bacillus) 間、クレプシ ーラ (Kiebaislia) 異などに関する相関 特象物由スの砂束が、αーアミラーゼは、パチルス (Kiebaislia) 異などに関する相関 特象物由スの砂束が、αーアミラーゼは パチルス系などに属する相関、または、アスペルギルス (Aspargillus) 異など に異するカビ素物物由来の砂まなどが、裏で選択できる。

これらの特殊多剛者は、首配の条件を得足しさえずれば、必ずしも効象して使用する必要はなく、通常は、机関者で本発明の目的を選載することができる。

必要ならば、公知の各額方法で精製して使用してもよい。また、市機の難転謝 酵素を利用することもできる。

使用序表量と反応り間とは、実験な関係があり、通常は、拡放なの点から的5万 388時間で反応を持了するように顕著最が同ばれる。

また、固定化された物を移動器をバッチ式で修り乗し、反応に、または触編式 、で連転的反応に利用することも、過度避択できる。

本発明の反志方法は、ヘスペリジンの仕込機度を高めた状態で、 糖穀移酵素を作用させるのが望ましい。

機えは、ヘスペリジンを書掛状で反応せしめる場合には、約0.1万至2.67/7%の 層類状へスペリジンと適量ααーグルコシル報化合物とを含有するヘスペリジン 高含有数を、p.14 約4.5万至3.5とし、収転多原素が作用しうるできるだけ高温、 具体的には、約70万至50℃に維持し、これに雑収多原素を作用させると、ヘスペ リジンボαーグリコンル ヘスペリジンに変数するにつれて開助状へスペリジン が指々に除鮮し、同時に、αーグリコンル ヘスペリジンが改進に実施度に表成する。

また、例えば、ヘスペリジンをP17.0を加えるアルカリ側で仅応する場合には、PH約7.5万至10.4の水に約1.2万至5.01/Vがのヘスペリジンを創動策矩し、これに測量のローグルコシル機化合物を溶解して移られるヘスペリジン高含者技を、物転移呼楽の作用しうるできるだけ高ロ日、高温、具体的には、PH約7.5万至10.6、高度約50万至80℃に維持し、これに無転移研究を作用させるとローグリコシル ヘスペリジンを容易に、高温度に生成する。

この原、アルカリ性終着中のヘスペリジンは、分解を起しやすいので、これを 防ぐため、できるだけは地、様気下に地路するやが思ましい。必要ならば、し… アスコルビン酸、エリソルビン酸などの酸を防止剤を地容をせてもよい。

要に、前に来学を調か合せる方法、例えば、約9.5万度18.0至/7月のペスペッツンと適乗の4ーグルコシル額化合物とを含蓄するヘスペッジン高会有数を専出的7.5万を10.0、滅ば約50万至40℃に無理し、これに質転移原業を作用させると、4ーグリコシル・ヘスペッジンを容易に、高異度に生成する。

また、ヘスペリジンとして、例えば、約0.1万面1.0型定のカセイソーダ水溶液 、カセイカリ水溶液、炭酸ソーダ水溶液、水酸化カルシウム水、アンモニア水などの独プルカリ性水等板に約0.5万至10.0F/F外の高機度に溶解させたものを用い、これに機能、高酸などの過程水溶液を加えて、薄水が作用しうもp.14に調整するとともに、ローグルコンル酸化合物を加え、頂もに朝紅姿等学を作用させることは、ローグリコンル・ヘスペリジンを容易に、高機度に収減させることができるので、核めて資料令である。

この際、せっかく高騰度に推解させたヘスペリジン接続も、険生水路銀ゼリ日 を興報するとヘスペリジンが折出を起し易いので、そのりお漁物的に、ューゲル コシル理化合物で少量のα~グリコシル へスペリジンなどを共夺させて、ヘスペリジンの新出を押捌しつつ額転移反応を配始することも預測に更鑑できる。

また、更に必要ならば、反応前のヘスペリジンの首都更を高め、ヘスペリジンへの報を移反法を容易にするために、ヘスペリジン高会有前に水と互いに終罪し うるも独特法、例えば、メタノール、エタノール、n - プロパノール、(100 プロパノール、ニープタノール、アセトール、アセトンなどの後級アルコール、 他級ケトンなどを光明を含むことも、確認選択できる。

また、執転器反応により生成せしめた比較的高分子のαーグリコンル ペスペリジンは、必要により、そのままで、または、多名性合成は特別面によりで疑いした後、グルコフミラーゼ(BC 8.5.1.3)、または月ーアミラーゼ(BC 8.5.1.3)、または月ーアミラーゼ(BC 8.5.1.3)、または月ーアミラーゼ(BC 8.5.1.3)、または月ーアミラーゼのよって部分額水分割し、α・グリコンル ペスペリジン ロαーローグルコンル基の数を低端させることができる。 相えば、グルコフェラーゼを作用させる場合には、αーマルトンル ペスペリジンと主要を記させることができ、また、月ーアミラーゼを作用させる場合には、αーマルトトリオンル ペスペリジンとも、またαーグルコンル ペスペリジンとロスを生成するととができる。

育雑のようにしてαーダリコシル ヘスペリジンを生成すしめた反応格種は、 そのままでαーグリコシル ヘスペリジン製品にすることもできる。 液常は、反 医療核毛腫満、濃縮してシラップ状の、更には、乳素、含文化して物学状のκー グリコシル ヘスペリジン製品にする。

本製品は、ドタミント強化剤としてばかりでなく、安全性の高い天然壁の質色 着色料、酸化性止制、安定剤、晶質成良剤、予防剤、治療剤、繋外線験収剤など として、数食物、降好物、飼料、餌料、飢傷受性疾患剤、化粧品、ブラスチック 製品など、各種組成物への用油に、名剤に利用できる。

更に、特製された α - グリコシル へスペリジン型品を製造する場合には、多 乳性介成受着剤による吸着性の蓋を利用してα - グリコシル へスペリジンと α - グルコシル製化合物にどの未締備とか分類して物製すればよい。

平知明でいうが共在会政制度とは、多れ位で広い投資会面積を有し、かつ野イオン性のステレンータビニルベンゼン重合体、フェノール・ホルマリン機関、アクリレート機関、メチアクリレート機関などの合成制度であり、例えば、市起されているRobmaを ffassは観光の底温をアンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-2、アンパーライトXAD-4、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-1、アンパーライトXAD-12、アンパーライトXAD-12、アンパーライトXAD-12、アンパーライトXAD-12、アンパーライトXAD-12、アンパーライトXAD-12、アンパーライト、メロリアー13、ダイヤイオンHP-10、メイヤイオンHP-10、ダイヤイオンHP-10、ディアイオンHP-10、アイヤイオンHP-10、ディアイオンHP-10、1 MACTI社事権の関係なイテクティミュー42、イマクティミュn-44にイマクティミュn-44のとかある。

4発明のα-グリコシル ヘスペリジンを生成せしめた反応数の締製方法は、 反応核を、例えば、多孔性合成製満 無を充填したカラムに追接すると、α-グリコシル ヘスペリジンおよび北較的多量の本度がヘスペリジンが多孔性合成基準 制に機動するのに対し、多量に共存するα-グルコシル糖を合物、水準性響類は 数差されることなく。そのまま進出する。

必要ならば、物転は排泄の反応終了物、遅れ各合変形質剤に接触させるまでの 間に、利えば、反応減を加熱して生じる不適能を施測して限ましたり、ケイ酸す ルミン散マグネシウム、アルミン酸マグネシウムはどで処理して反応戦中の蛋白 作物質などを研究数型したり、放験核イオン交換期間(月型)、中国基色または 報題基集イオン交換期間(01日間)などで必須して税益するなどの構製方法を組 合金せて、利用することも設定である。

教達のようにして、多孔性合成吸者制力うなに週代的に職業したホーダリコシル へスペリジンと比較的少量の未長志へスペリジンとは、着アルカリ、水などで挑手した後、比較的少量の有效維耳または青磁溶体と水との試合数、例えば、よタノール水、エタノール水はごを通視すれば、まず、エーダリコシル へスペリジンが集出し、通常限を増すか有機治過機変を残めるかずれば未長店へスペリジンが発出してくる。

このαーグリコシル へスペリジン高音有勢出版を患<equation-block>発見型して、まず有機容 態を覆ました後、適当な顕微にまで連絡すればαーグリコシル ヘスペリジンタ 工販分とするシラップ状製品が得られる。更に、これを被鍵し効率化することによって、ローグリコシル ヘスペリジンを主成分とする要求状質品が得られる。

この有機器等によるローグリコシル ヘスペリジンおよび未反応へスペリジンの輸出操作は、衝移に、多孔を合成整理層の再生操作にもなるので、この多孔性合成整理層の繰り返し使用を可能にする。

生た、本熟明の遅れ作合収受養料による特別は、α = グルコレル物化合法、水 体性構製だけでなく、水溶性の塩素などの央航物も同時に除去できる特長を有し ている。このように、してはられる a = グリコレル へスペリジンは、次の得長を 育している。

- (1) へスペリジンと比較してαーグリコンル へスペリジンは、水溶性が稼めて大きい。また、αーグリコンル へスペリジンは、ヘスペリジン合育水路技術ものへスペリジンの新出を抑制し、飲船級の白曜を貼止する。このことから、αーグリコンル へスペリジンは、相相覆具件に含まれるヘスペリジンの新出手が傾し、白癬を訪止することのできる安定剤として有利に利用できる。
- (2) へスペリジンと比較してαーダリコシル ヘスペリジンは、耐光性、変変性が大会い。
- (4) ローグリコンル へスペリジンは、体目の降潔によりへスペリジンとグルコースとに海水分解され、ヘスペリジン本来の生産活性(ピタミンア)を発す。また、ローグリコンル ヘスペリジンは、チアミン、リボフラビン、ビタミンに、ビタミンにだ他のピタミンや液化切止知の場合とは違って、実質的に無味、無美であって、変色、幅度、消失発生の創意となく安心して利用でき、ローグリコンル ヘスペリランを、ビタミンや酸化防止性の三種よたは2種以上と発用することも好動合である。また、ビタミンでことの財用により、それらの持つ生場民性を増強させることができる。
- (4) αーグルコシル製化金銀を含有する製品の場合には、αーグミコシル へ スペリジンの効果を発揮するのみならず、αーダルコシル関化合金が観光、 増量効果や、甘味効果を要称することができ、また、αーダルコシル関化合 物を輸出した類型製品の場合には、ほとんど観光、増高することのくαーダ

リコシル ヘスペリジンの効果を発揮することができ、また、実質的に病味、振泉なので作用に興味、調査することができる。

これらの背長か (3、ローグリコンル へスペリジンは安全性の高い天然壁のビタミンド 娘化期としてばかりでなく、黄色神色剤、酸化防止利、安定剤、品質 食 以海、ウィルス性疾患、細胞性疾患、薬剤乳炎療、薬性糖齢など感受性疾患の予助剤、治療剤、愛外は吸収和などとして、柔食物、呼延物、飼料、両剤、抗感型性疾患剂、美現剤、色白剤などの化粧品、質には、プラスチック製品など、各種機成剤への用途に否有に利用することができる。

またローグリコンル ヘスペリソンは、国味、塩からは、洗味、苦味、苦味などの登味を有する各種作賞とも上く資和し、耐酸性、耐酸性も大きいので、普通一般の飲食物、清厚物、例えば、調味料、和菓子、拌煮子、水煮、飲料、スプレッド、ペースト、黄物、ドン奇な、番肉加工品、魚肉・水密加工品、乳・卵加工品、炙染加工品、果实加工品、素明加工品、たい塩門に利用することができる。また、水質、素料、整件、裏、魚などの飼育助労のための飼料、資料などにビタミンP液化剤、現存なら上などの目的で配合して利用することも、好養合であた。

その他、タバコ、トローナ、万油ドロップ、安全ビタミン州、口中南部州、口中南部州、口中南部、方がい際、経管栄養剤、内投源、佐利州、神田みかき、口紅、リップクリーム、日掲け止めなど各種関伏、ペースト状、液状の噴射物、感受性疾患の予防者、治療剤、すなわち、抗感受性疾患剤、発調剤、各自用などの化粧品などに配合して利用することも、有利に実施でき、更には、紫外原要収測、劣化防止和などとして、プラスチック解品などに配合して利用することも、有利に実施でき

また、本発明でいう都受性疾患とは、a - グリコシル へスペリシンによって 予防され若しくは治療される疾患であり、それが、例えば、ウィルス性疾患、無 関性疾性、外側に疾患、死疫性疾患、リューマナ、破疾病、破理者疾患、悪性疾 などであってもよい。 a - グリコシル へスペリジンの感受性疾患予診剤、治 解剤は、その目的に応じてその形状を自由に避死できる。例えば、疾者別、治 規、点無利、うがい利、注針剤などの疾患、脓毒、はっぷ乳、クリームのような

(2)の方法で待たαーグリコシル へスペリジン類品[1]を水に3代/ギに場解し、これにグルコアミラーゼ(RC 3.2.1.3、生化学工業株式会社販売)を装算場グラム当り1.03単位加え、PH5.0、55℃に維持して8時間反応させた。反応放を加熱して禁業を失済させ、維急し、連接を多孔符合成物層層、商品名グイヤイオンHP-10(三菱化成工業株式会社販売)のカラムにSV2で適度した。その総理、無軽中のαーグリコシル へスペリジンとを反応へスペリジンとが多孔性合成散層類に設着し、グルコース、塩間などは販量することなく既出した。次いで、カラムを水で適度、洗浄した被、エタノール水準放換まを設定的に高めながら適度し、αーグリコシル へスペリジン側品[1]を固定性当り原料のヘスペリジン都是に対して約70%の電率で得た。

また、グルコフミラーゼに代えて、β-アミラーゼ(BC S. E.1.2、生化学 (業務式会社販売)を用いて、約34の方法に乗じて、α-グリコシル へスペ リジン豊品(1)を加水分解し、特製、機能、排水化して、浸金色のα-グリコ シル へスペリジン福品(3)を財利のヘスペリジン業業に対して約70%の収率 で移た。

異職 2 αーグリコシル ヘスペリジンの型化学的性質

(1) 水倉性の向上

実験1(1)の方法で解棄準度なし異報したα・グリコシル へスペッツン合有 反応法と、この方法で用いる標準を予め加無失派をせて実験1(1)の方法に乗じ て地電した料理被とを、くむの冷器に2日間装置したところ、対期級では、ヘス ペリツンが輸出して自帰したのに対し、α・グリコシル へスペリジン含有区 ら複は差別のままであった。

巻。て、爾保審度度により金成したα-グリコシル ヘスペリジンは、水剤 性が審しく向上している。更言すれば、α-グリコシル ヘスペリジンは、水 総収率に共存する米収度ヘスペリジンの研究を抑引し、波路数の白癬を防止し ている。

(2) 落頭に対する密解性

α = グリコシル ペスペリジン番品は、水、0.1根定カセイソーダ、0.1機定

ベースト解、粉剤、吸液、カブセル剤、食剤などの質剤などである。 要剤に当たっては、必要に応じて、他の成分、例えば、治療剤、生趣所性物質、効生物質、 複動剤、増量剤、安定剤、着色剤、栄養剤などの1種また2端以上と併用すること も、種類である。

投与負は、含意、技与経路、技与経証などによって、通常調整することができる。通常、ローグリコシル ヘスペリジッとして、成人1日当り、約0.001万乗10.0グラムの報酬が発達である。

また、化粧品の場合も、大体、商品の予防難、治穀剤に単じて、利用することができる。

ロ ゲリコシル ヘスペリジンを利用する方法としては、それら各種譲渡物の 製品が、完成するまでの工程で、例えば、拠和、規作、均薄、提供、推測、数布 、業布、検理、注入など、公知の方法が、適宜選ばれる。

以下、本発明の a - グリコシル へスペリジンの一個を実験で観測する。

実践 1 αーグリコシル ヘスペリジンの飼泉

(1) 雜転移反応

へスペリジン|重量割をよびデキストリン(D 2 20)8食量能に水5、000重量能 を加えて加熱、等罪し、これにパナルス・スケアロサーマフィルス(Bacilles Elerothereophilus) 由来のシクロマルトデキストリン グルカノトランスフェラーゼ (表式会社林原生物化学研究所販売) をデキストリングラム 高り 20単位加え、p F 6、5、70℃に成長して18時向反応させ、ヘスペリジンの的76%をローグリコンル へスペリジンに転換し、その表、加熱失調させ、ローグリコシル ヘスペリジンと生もに未反応へスペリジンを含有する反応数を持た。

(2) 初 軽

(1)の方法で特た同広省を減減し、兼収を作れた合成吸密期、商品名グイヤイ オンHP-10(三変化成工業科式会上展見)を充填したカラムにSV2で過度し た。このカラムを水で残争した歳、569/7所エタノールを選択し、この持出度を 議論して特殊を増出し、数末化して製質色のローグリコシル へスペリジン様 品[I]を取得のヘスペリジン監査に対して約130%の収率で待た。

(3) アミラーゼによる加水分解

塩酸に具体、メタノール、エタノールに数据、エーテル、ペンゼン、クロロホルムに不能。

(3) 素外線吸収スペクトル

αーケリコシル ヘスペリシン個品をN.1場定力をイソーダ終終に無罪して、 紫外線裏収スペクトルを調べたところ、新品[I]、振島[I]および標品[II]の いずれも、ヘスペリシンの場合と同じ286mm付近に吸収無大を有していた。

(4) 奈外維験根スペクトル

K 9 r 放用抜によって、α - グリコンル へスペリプン協品のお外線板収ス ペクトルを慣べた。κ - グリコンル へスペリジン製品(1)の検集を剪1間に 、製品[1]の被制を剪2以に示す。

(5) 加水分解に対する姿定性

(a) σーグリコシル へスペリシン製品は、ブラの打魔内米のαーグルコシダーゼ(EC 3.2.1.20)により加水分解され、ヘスペリジンとDーグルコースとを生成する。

(6) ターダルコシダーゼドよっては加水分解されない。

(6) 所願クロマトグラフィー

(3)分析方数

プレート:メルク社職、 商品名キーゼルゲル60F:**

■関格協: ェーブタノール: 階級: 水=4:2:1

春会部 : 19/19/故障第二セリウム1,89/17% 荷蘭水路鉄

(b) 分折結果

a - グリコシル ヘスペリジン種品を分析したところ、構築[1]の集合には、910.69m ヘスペリジンのスポット取れに、新たに、810.48、0.84、0.22、3.16、0.10、1.94および原点にスポットが認められ、構品[1]の場合には、910.48でスポットが溜められ、構品[1]の場合には、210.48、0.84のスポットが認められた。

以上の歴化学的性質から、裸足[:]、機品[E]および場合[I]に含まれる Rf0.41を示す物質は、ペスペリジン[モルにローグルコース機来が1モルの歴 令した α - グルコシル ヘスペ (ジン (別名、ヘスペ (ジンモノグルコサイド) と何言され、標品「1)および構品[1]に含まれる 160.34を示す物質は、ヘスペリジン(ドルにD - グルコンルルコシル・スペリジン(別名、ヘスペリジンジグルコサイド) と判断され、回復に、費品[1]に含まれる 160.20以下の複数の スポットを示す物質は、ヘスペリジンドルドローグルコース接高が8年ル以上α 前分した α - オリゴグルコンル・ヘスペリジンであると何断される。

このように、本類発制のαーケリコシル へスペリジンは、ヘスペリジン にDーグルコース機基が等そル以上α結合した水溶性臭斑な新規へスペリジン連誘導体であって、生体内に摂取されると、αーグルコンダーがによって 普島に加水分解され、ヘスペリジン本来の生電品性を発揮する。

森納 3 東北 春年

7月今の di点マクスを使用して、実験 1 (2)の方法で飼製した αーグリコシルへスペリジン機器[1] Pを経口皮与して、魚を署技テストをしたところ、体度18年にも、5-1まで東に資化度されなかった。終って、米依賀の事情は無めてせい。 なお、集験!(3)の方法で調製した αーグリコシル へスペリジン録品[1] を用いて関機に本テストを行ったところ、資効と目機の始果が得られ、電像が扱めて低いことが、報明した。

以下、本発明の実施例として、ェーグリコシル ヘスペリジンの製造例を実 強例点で、ォーグリコシル ヘスペリジンの各種組収物への用資例を実施例及 で述べる。

実施供 A・1 a・ゲリコシル ヘスペリジン

ヘスペリジン1変量値を1機定力セイソーが発展4重量機で開解し、これに 0. 0. 1規定拡散維維を加えて中的するとともにデキストリン (DE 10) 4室書館を加え、適ちにパチルス・ステアロサーモフィルス由来のシタロマルトデキストリン ゲルカノトランスフェラーゼ (株式会社杯が生物化学研究所展売)をデキリン プラム語 9.20単位加え、pH 8.0、73でに維持して、機能しつつ2.6時間 反応させた。反応数を修繕クロマトグラフィーで分析したところ、ヘスペリジンの約70分が、αーグルコシル・ヘスペリジンの約70分が、αーグルコシル・ヘスペリジン

クン、α・トリグルコシルへスペリジン、α・テトラクルコシル ヘスペリジン、α・ペッタグルコシル ヘスペリジンなどのαーグリコシル ヘスペリジンにを接していた。反応被を加発して終来を失高させ、機遇し、維務を、常権に横って、イオン交換制制(日重和よびG日型)で説均積製し、設めして、シラップ状のαーグルコシル株化合物を含有するαーグリコシル ヘスペリジン製品を、類素物質り複料重量に対して約91米の収取で得た。

本出は、ビタミンド強化剤としてはかりではく、安全性の高い天然型の黄色 オ色形、強化的止飛、受電剤、品質改良剂、予防剤、治療剤、素外線及収剤な どとして、飲食物、野肝物、類料、類似、致感受性疾患剤、化液品、プラスチック製品など、各帯能療物への用途に有来に利用できる。

裏施例 ムー2 αーダルコシル ヘスペリジン

実施例Aー1の方法に乗じて調製したシラップ状のαーグルコシル類化合物 を含有するαーグドコシル ヘスペリジン製品(常量制を水イ準量物に溶資し、 これにグルコアミラーゼ (8 C 3 と l. 8、生化学工業株式会社展光) ティーグ リコシル ヘスペリジン報品国準券グラム当り100単位加え、30年、5時間反応 させた。反応報を確身クロマトグラフィーで分析したところ、αーグリコシル ヘスペリジンは、αーグルコシル ヘスペリジンに転換していた。

表応放を運動して際緊を失限させ、認識し、解散を多孔性合成吸者病、関係名ダイヤイオンヨアー10(三差化成工機株実会社販売)のカラムにSV2で運動した。その結果、態度中のローグルコシル へスペリジンと北反応ペスペリジンとが多孔性合成験者類に吸着し、グルコース、転割などは吸者することなく 険団した。 快いで、カラムモ水で遊院、改修した後、エクノール水溶液論度を 散降的に高めながの遺址し、ローグルコシル へスペリジンを採取し、延 圧論的し、粉末化して、粉末状のローグルコシル へスペリジンを提系物当り 終知ののペスペリジンを提系物当り

α・グルコンル ヘスペリウンキ酸で加水分配したところ、ヘスペリツン1モルに対し、1・ラムノース1モル、D・グルコース2モルを中成し、また、α・グルコンル ヘスペリウンに、ブタの肝臓から能対し部分指数したα・グルコンダ・ゼを作用させると、ヘスペリウンとD・グルコースとに加水分解される

ことが特殊した。

本ォーグルコシル へスペリジンは、高度に接続された水的後の高いピクミンド勢化剤として、また、食色質化剤、酸化関止制、安足剤、品質吸及剤、予防剤、治薬剤、強外線吸収料などとして、軟素物、性質物、乳器受性疾患剤、化粧品など、各種組成物への用途に、有利に利用できる。

実施側 A-3 a-グリコシル ヘスペギジン

へスペリンンI基単能を水500重量部にヵ計9.5で加熱溶解し、質にデキストリン (DE 8) 10重量報を水は10重量部に加熱溶解し、次いで、これを解釈を懸金し、これにシクロマルトデキストリン グルカノトランスフェラーゼを、デキストリングラム当り30単位加え、p H 8.2、65℃に維持して、機持しつつ40時間反応させた。

原政権を障礙クロマトグラフィーで分析したところ。ヘスペリジンの約89% がエーグリコシル ヘスペリジンに被換していた。

反応策を加熱して酵素を失済させた袋、濾過し、違族を必れ後合成吸溶素、 商品名アンバーライトXAロー7(Roha & Hazz社製油)のカラムに3 VI.6で配放した。

もの結果、落様中のαーグリコッル ヘスペリジンと木反志へスペリジンと が多孔性介重吸着別に吸着し、デキストリン、オリゴ嬢、塩類などは吸着する ことなる確認した

このカラムを水で温波、焼きした後、50F/YMメタノールを温波して、ローダリコンル へスペリジンおよびヘスペリジンを落出し、これを裏頼し、数本化して、料本数の一グリコシル ヘスペリジン製品を解料のヘスペリジン重量に対して約128%の収料で得た。

本品は、水排性の高いビタミンP路化剤としてばかりでなく、安全性の高い 天然型の質色着色剤、液化陰止剤、安定剤、品質改良剤、予防剤、治療剤、素 外練養吸剤などとして、飲食物、物質物、質料、肉料、光香受性疾患剤、化粧 品、ブラスチック製品など、各種製成物への用液に有剤に料用できる。

突縮例 Αー4 αーグリコシル ヘスペリジン

(1) αーグルコシダーゼ製品の裏製

マルトース47/V系、リン酸1カキウム0.1 T/Y等、消酸アンモニウム0.1 T/Y等、関酸マグネシウムD.05T/Y系、単化カリウム0.85T/Y系、ポリペプトン0.2 T/Y系、製像カルシウム1 T/Y系、単化カリウム0.85T/Y系、ポリペプトン0.2 T/Y系、製像カルシウム1 T/Y系(別に、依当減過して、板歯がには無菌的に活加する。)および水からなる枚体給均503重量がに、ムコール・フェバニカス(Nacor Javanicus):FO 4576を配度30でで、44時間振動場重した。均差終了後、原本体を暴取し、その海菌条体45至温器に対し、0.5M所能顕微さし、50分類した。)に指揮した4MR 素表500重量を拡大、50℃で40時間動態した後、30分類した。この上指を線水中で一項多折した後、表受の9数和とし、4℃一級数量しと外成した超付金を減取し、0.61M計数級調数(p.H.5.3)50減最毎に随適効解した後、混心分類して上接き扱限し、αーグルコシダーゼ群品とした。

(2) αーグリコシル ヘスペリジンの調板

ヘスペリジン5型重都を0.5規定カセイソーが廃我100型量等に加熱停解し、 これに0.01規定塩酸溶液を加えてpH9.5にすることもに、デキストリン(U B3D)20重量等を加え、資ちに(1)の方法で興製したα-グルコンダーを構品 10監量部を加え、pH8.5に維持して慢体しつつ55℃で(6時間反応させた。

「要の確全存職ペーパークロマトグラフィーでを折したところ、ヘスペリジンの約60%が4~グリコシル、ヘスペリジンに転換していた。

【近瀬を突ェ男人→3人間券に募集し、直線、粒末化して移来状α→グリコシル へよべリジン製品を設計のペスペリジン製品を設計のペスペリジン製機に対して約110米の老甲で集た。

本品は、実施例人・3の場合と同義に、水体性の高いビタミント強化層と してはかりでなく、安全性の高い天然界の変色着色制、酸化酸止潤、安定剤 、品質改成剤、予防剤、治療剤、紫外線吸収剤などとして、各種組成物への 用液に利用できる。

寒滋粥 B−1 ハードキャンディー

通元返享帳水舶(林原南朝株式会社販売、登集開展マピット)1,500重量部 七加熱し、助圧下で水分約3%以下になるまで誘縮し、これにタエン酸15重量 軽および曳旋例み−3の方法で得た粉木状α−ダリコシル へスペリジン1度 重印および少量のレモン香料を飼和し、次いで高齢に使って、底形、包要してハードキャンディーを得た。

本品は、ビタミンPを設化した素色のレモンキャンディーであって、働う 観性、低力ロリーである。

実施部 19 - 2 フキの家教

フキを次むをし、適当な長さに切断して、確いえ権水に被除機停し、これを決定例 A - 1 の方法で得たシラップは a - グリコンル へスペリジンと背 色1号とを配合して表製した緑色なられを含有する故で秋込んで、緑色の錆か ガフキの水変を得た。

本品は、各種和風料館の材料として包どりを形えるとともに、食物鉄器と しての生態効果をも各様する。

美市例 8 - 5 求 庇

そヶ陽都約1監量目に水1.2監量等を保全し、加熱期化しつつ、これに砂糖 1.2当業期、結晶性ターマルトース(終度性式会計製造、砂糖関係サンマルト) 0.7該業等。未計9.3該業務部よび支施例A - 1.0方法で得たシラップはα ーグリコシル ヘスペリジン0.2業量報を通和し、以後、常法に関って、成本 、信集して状態を製製した。

本品は、風味、日当りとも良好な東難で、きびだんご風の和菓子である。

实施器 8-4 连合台垛料

はちみつ180重量等、美性化線50重量器、奥砂糖2減量器および穿集例ネー 4の方法で得た粉末状αーデリコシル ヘスペリジン(重量常を混合して配会 甘味料を得た。

本品はピタミンPを強化した甘味料で健康食品として好適である。

実施側 B~6 サンドクリーム

対象性α マルトース (非原体式会社製造、登場関係ファイントース) 1, 200重量体、ショートニング1,000重量体、実施例A - 3 の方独で棒た粉末次 α - グリコシル ヘスペリジン10監量値、レシチン1重量等、レモンオイル1 重量解、パニラオイル1乗量組を含性により配和してサンドクリームを製造した。

プルドゥーグルコシル ヘスペリジンが50mgになるように分茂し、これを城 圧乾燥し、耐入して佐射剤を観査した。

本注動剤は、単なで、または、他のビタミン、ミネラルなどと混合して筋 内内又は伊朗内に及与できる。また、本品は、拡進が減の必要もなく、使用 に膨しての生理負担水などへの参加性は減めて良好である。

双版例 3-10 注 4 利

後化ナトリウム6重量制、増化カリウム0.3度産業、塩化カルシウム0.2度産業、乳酸ナトリウム3.1度度無、マルトース45直度部及び実施到点・2の万味で得たューダルコシル・ヘスペリジン1証量能を水1.00回重要能に停削し、ま決に従って、得製能送してパイロゲンフリーとし、この終放を強減したプラスチック容器に250でにずつ充填して、性針列を製造した。

本品は、ピタミンP補助としてだけでなく、カロリー補助、ミネラル補給 のための作材剤で、卵中、病後の治療促進、調複促進などに有利に利用できる。

| 株学世学県 1 1 - E | 関地深

財品性と一マルトース20高級様、ダリシン(...|監量施、グルタミン康ナトリウム 0.1912 最越、女権 1.2 医量物、クエン酸 1度最加、丸酸カルシフェ0.4 変重部、実施でグネンウム 0.1 医量が、実施列 A ~ 3 の方法で得たαーグリコシルへスペリジン 0.1 産量部、チアミン 0.01 産量等及びリポフラビン 0.8 1重量等からなる配合物を調製する。この配合物24gずつをラミネートアルミ製小袋に充填し、ヒートシールして経管整備制を調製した。

本集物学獎利は、一揆を約500万至500mにの水に増加し、経管方法により昇 施、育、簡などへの採口的又はが採口的栄養組給収としても有利に利用でき ・

樊施例 B-12 路 用 剤

DL - 丸酸ナトリウム21頭重都、ビルビン酸ナリトウム1度性部、実施倒点〜 1の方性で得たαーグリコシル ヘスペリジン5球量部次びエタノール40重量 額を、俯割水28度量解及び着色料、資料の適量と拡合し、将用別を製造した 本品は、ビタミント強化、黄色着色したサンドクリームで、口当り、強け 異合、風味とも良好である。

異族例 9~6 鏡 利

アスコルビン酸20変量部に結晶後 8 - マルトース13変量部、コーンスター チ1変量部および実施例と、2 の方法で得た粉末状ェーグルコシル ヘスペリ グン5変量機を均一に複合した機、製紙12mm、20R件を用いて、打造し機利を 浄化。

本品は、アスコルビン酸とローグルコシル へ スペリランとの複合ビタミン系で、アスコルビン酸の安定性もよく、飲み扱い収穫である。

実施例 Bーフ カプセル剤

予数カルシウム・一水塩10変量部、レー乳酸マグメンウム・三水堰50変量等 、マルトース57業量部、実施例トー2の方状で得たαーグルコシル へスペ リジン70変量和及びエイコサペンタエン第20k音符ャーシクロデキストリン包 接化合物12度量割を均一に配合し、原性成形機にかけて顕微とした弦、含此 に残って、セラテンカプセルに対入して、一カプセル150mg人のカプセル発を 製造した。

本品は、血中コレステロール低下剤、免疫酸素剤、参脱剤などとして、癒 受性疾患の予助剤、治療剤、値裏等逆剤食品などとして有利に利用できる。

実施領 出一名 数 去

計議ナトリウム・三水塩1度量部、PL-乳酸カルシウム(医重部をグリセリン10室量準と均一に指合し、この飲金値を、ワセリン80室量準、木中ウ10室 最終、ラノリン18室景部、ゴマ装14.5度量解、異常網ネー4の方法で得な。 ーグリコシル ヘスペリジン1度量部及びハッカ後0.5重貨額の総合物に加え 、更に均一に発布して教育を製造した。

本品は、日誠け止め、機能制、色白剤などとして、真には外傷、火傷の治 徹底強利などとして、有利に利用できる。

実施例 8 → 5 往 射 飛

実施何人 - 2 の方法で終た α - グルコシル へスペリジンを水に溶解し、 常法に従って、特望遠遜してパイログンフリーとし、この禁ੱを20xL等アン

本品は、美駅階、色白剤として軽減であり、大谷用の路に100万葉18,000所 ド春駅して利用すればよい。本品は、入谷田の裏の場合と開鍵に、跨貨形水 、化粧水などに希釈して利用することも、有利に発展できる。

実施例 8-13 乳 救

ポリオギシエチレンペペニルエーナル(0.3 質量部、テトラオレイン解ポリオキシエチレンソルビトール)重要係、根角類モノステフリン酸グリセリン]重量値、ビルビン酸6.5 変量値、ベペニルアルコール(0.5 位置値、アポガド加]受量等、実験例入一番の方法で得たαーグリコンル ペスペリブン[資量部、ビタミン5 及び防薬者の過度率、 古族に従って加熱物解し、これにし、実施ナトリウム 1 配番値 3、1、5 ー ブナレングリコール5 直兼部、カルボキンビニルボニマート 1 散量値 3及び等限水が5、4 電量値を加え、木モゲナイザーにかけ乳化し、更に割料の適量を加えて振移機合し、、現まを製造した。

本品は、日臨付止め、美師翔、包白州などとして、有利に利用できる。

実施例 Bートゥ クリーム

モノスチアリン酸ポリオキンエテレングリコール2型製館、自己乳化型ギノステアリン酸グリセリン5重量額、実施例A-૨の万法で得たα-ダルコシルへスペリジン2世景等、推動パラフィン1室展等、トリオクナン戦グリヤリル11電景等及び砂溶剤の雑量を、常放ド袋って加熱物質し、これにL-乳酸2、近度等、i、3-ブチレンデリコール5電貨制及び精製水55電貨都を加え、ホモゲナイザーにかけ乳化し、更に条料の高能を加えて横が熱合しクリームを繋返した。

木品は、日焼け止め、英汎剤、色白煮などとして有利に利用できる。

[契明の効果]

本文で述べたごとし、本発明の新規検索であるヘスペリジンにローグルコース 投基が零年ル以上 α的分している αーグリコシル ヘスペリジンは、水存性に優れ、保質的に領球、無異で、海洋の離金もなく、圧圧的で参考にヘスペリジンと ローグルコースとに加水分解され、ヘスペリジン本来の生態活性を発揮する。 また、この αーグリコシル ヘスペリジンが、ヘスペリジンとαーグルコシル

また、このαーグリコンル へスペリジンが、ヘスペリジンとαーグルコンル 糖化合物とを含有する確談に、競転警察スを作用させる生化学的手指により、金 異に生滅できることから、経済性に優れ、その工業交流も容易である。

受に、ヘスペリジンの仕込締役を高めて反応させることができ、 αーグリコシ ルーヘスペリジンの製度を、客島に高麗度に生成しうることを見い出し、併せて 、この夜広波の預測に際して、反応度を多れ性合成級者剤と搐謗させてューグリ コミル ヘスペリジンを嫌疑できることも見い問したことにより、 α ーグリコシ ル ヘスペリジンの大哉魔盗を、極めて容易にするものである。

また、このようにして暮られる4~グリコシル ヘスペリジンは、水溶性具好 、耐光性・安定性臭好、充分な生理活性を発揮するなどの特徴を有しており、安 全性の高い天然型のピタミンP強化剤としてばかりでなく、黄色着色剤、酸化防 止棄、妄复剤、湿質致良剤、予防剤、治療機、整外線過収剤、劣化筋止無はどと して、飲食物、啓好物、飼料、商料、沈藤受性医療剤、美肌剤、色白剤などの化 表品、更には、プラスチック製品など、各種組成物への形迹に有利に利用される

ぜって、本発明によるα~グリコシル ヘスペリジンの工業的製造法と、その 用途の確立は、教食品、化粧品、医薬品、プラスチック産業における工業的業業 が進めて大きい。

4. 図面の簡単な数明

第1回は、本発明の一例として、αーグリコシル ヘスペリジン排品[:]の訴 外線吸収スペクトルを示す。

第2回は、本発明の一例として、 αーダリコシル ヘスペリジン様品(α]の差 外級職収スペタトルを示す。

特許出願人

株式会社林業生物化学研究所 代表者 本 別 報 (金)